Aus der Abteilung Biologische Chemie der Schering AG
Berlin und Bergkamen
(Leiter: Priv.Doz. Dr. Dr. E. Gerhards)

Zum ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte der Ratte nach in vivo-Verabreichung von Testosteronpropionat und Östradiol allein und in Kombination mit Cyproteronacetat bzw. Progesteron

Untersuchungen zum Einfluß von Cyproteron und Cyproteronacetat auf die durch Testosteronpropionat, Metenolonacetat und Methandrostenolon erhöhte ß-Glucuronidase-Aktivität der Niere der kastrierten Maus

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Albrecht Fischer
aus Berlin

1971

Aus der Abteilung Biologische Chemie der Schering AG
Berlin und Bergkamen
(Leiter: Priv. Doz. Dr. Dr. E. Gerhards)

Zum ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte der Ratte nach in vivo-Verabreichung von Testosteronpropionat und Östradiol allein und in Kombination mit Cyproteronacetat bzw. Progesteron

Untersuchungen zum Einfluß von Cyproteron und Cyproteronacetat auf die durch Testosteronpropionat, Metenolonacetat und Methandrostenolon erhöhte ß-Glucuronidase-Aktivität der Niere der kastrierten Maus

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Albrecht Fischer
aus Berlin

Referent: Priv. Doz. Dr. Dr. E. Gerhards

Korreferent: Prof. Dr. med. J. Nevinny-Stickel

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 8. 12. 1971

Inhaltsverzeichnis

1 Zum ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasen-schnitte der Ratte nach in vivo-Verabreichung von Testosteronpropionat und Östradiol allein und in Kombination mit Cyproteronacetat bzw. Progesteron.

1.1 Problemstellung

1.2 Methodik

1.3 Ergebnisse

1.3.1 Einfluß von Cyproteronacetat bzw. Cyproteron auf den in vitro-Einbau von ^{14}C-Leucin in Prostata und Samenblase nicht kastrierter männlicher Ratten.

1.3.2 Einfluß von Cyproteronacetat auf den durch Testosteronpropionat stimulierten Einbau von ^{14}C-Leucin in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten.

1.3.3 Einfluß von Progesteron auf den durch Testosteronpropionat stimulierten Einbau von ^{14}C-Leucin in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten.

1.3.4 Einfluß von Östradiol und Östradiol in Kombination mit Cyproteronacetat auf den ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten.

2 Untersuchungen zum Einfluß von Cyproteron und Cyproteronacetat auf die durch Testosteronpropionat, Metenolonacetat und Methandrostenolon erhöhte ß-Glucuronidase-Aktivität in der Niere der kastrierten Maus.

2.1 Einleitung

2.2 Methodik

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Einfluß der Kastration auf Gewicht und ß-Glucuronidase-Aktivität der Niere männlicher Mäuse.

2.3.2 Einfluß von Testosteronpropionat auf Gewicht und ß-Glucuronidase-Aktivität der Niere der kastrierten männlichen Maus.

2.3.3 Einfluß der anabolen Steroide Metenolonacetat und Methandrostenolon auf Gewicht und ß-Glucuronidase-Aktivität in der Niere der kastrierten männlichen Maus.

2.3.4 Einfluß von Cyproteron und Cyproteronacetat auf das Gewicht und die ß-Glucuronidase-Aktivität in der Niere der kastrierten männlichen Maus.

2.3.5 Einfluß von Cyproteron und Cyproteronacetat auf das Gewicht und die ß-Glucuronidase-Aktivität in der Niere der nicht kastrierten männlichen Maus.

2.3.6 Einfluß von Testosteronpropionat in Kombination mit Cyproteron auf Gewicht und Glucuronidase-Aktivität der Niere kastrierter männlicher Mäuse.

2.3.7 Einfluß von Cyproteron in Kombination mit Metenolonacetat auf das Gewicht und die ß-Glucuronidase-Aktivität kastrierter männlicher Mäuse.

2.3.8 Einfluß von Cyproteron in Kombination mit Methandrostenolon auf Gewicht und Glucuronidase-Aktivität der Niere kastrierter männlicher Mäuse.

3 Diskussion

4 Literatur

5 Lebenslauf

Digitized by the Internet Archive
in 2026

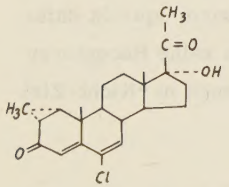
https://archive.org/details/IA41547205_0082

1 Zum ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte der Ratte nach in vivo-Verabreichung von Testosteronpropionat und Östradiol allein und in Kombination mit Cyproteronacetat bzw. Progesteron.

1.1 Problemstellung

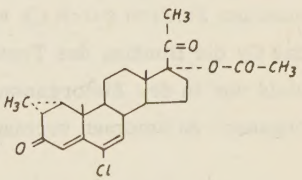
Durch die umfangreichen Untersuchungen von F. Neumann et al. (1) wurde gezeigt, daß das Cyproteron+(1, 2 α-methylen-6chlor-pregna-4, 6dien-17 α-Ol-3, 20-dion) und das entsprechende 17-Acetat, das Cyproteronacetat+(CyAc), die Testosteronwirkung auf Prostata und Samenblase der kastrierten Ratte aufheben. Cyproteron (Cy) dürfte dabei als kompetitiver Inhibitor wirken und die Testosteronbindung an den Receptoren in den Erfolgsorganen verhindern. Der freie Alkohol Cy (Formel 1) ist nach F. Neumann (1) ein reines, allerdings schwach wirksames Antiandrogen, praktisch ohne gestagene Wirkung und ohne hemmende Wirkung auf die Gonadotropinsekretion. Cyproteronacetat (Formel 2) ist ein starkes Antiandrogen, hat sehr starke Gestagenaktivität und hemmt die Gonadotropinsekretion.

Cyproteron



Formel 1

Cyproteronacetat



Formel 2

+Fa. Schering AG

Indikationsgebiete für Antiandrogene sind Krankheitsbilder, bei denen die Wirkung des endogenen Testosterons aufgehoben werden soll, zum Beispiel Prostatahypertrophie, Prostatacarcinom, Hypersexualität des Mannes, virilisierende Erkrankungen der Frau verschiedener Genese. Bei diesen Krankheiten würde sich zur Therapie Cy als reines Antiandrogen anbieten. Der Nachteil dieser Verbindung ist aber nicht nur ihre geringe antiandrogene Wirkung, sondern auch insbesondere die Tatsache, daß der Feedbackmechanismus zwischen Testosteron im Plasma und der Gonadotropinsekretion aufgehoben wird. Dies führt beim Mann unter der Verabreichung des Cys zu einer vermehrten Gonadotropinsekretion und sekundär zu einer Stimulierung des Hodens mit vermehrter Testosteronsekretion. Es kommt daher unter einer Cy-Behandlung beim Mann zum Anstieg der Testosteronausscheidung im Harn (2). Im Gegensatz dazu wird durch das peripher stärker antiandrogen wirkende CyAc die Gonadotropinsekretion und damit die endogene Testosteronsekretion gehemmt. (3) Für die oben genannten Indikationsbereiche ist daher das CyAc geeigneter als das Cy.

Der vorstehend skizzierte Befund, daß der Feedbackmechanismus zwischen Testosteron im Plasma und den hypothalamischen Zentren durch Cy aufgehoben wird, spricht dafür, daß Cy die Bindung des Testosterons an seine Receptoren nicht nur in den Zielorganen, sondern auch in "Nicht-Zielorganen" zu hemmen vermag.

Die tierexperimentell gut zugänglichen und daher besonders intensiv bearbeiteten typischen Zielorgane für Testosteron sind Prostata und Samenblase von Ratte und Maus (4).

Kastration führt zu einer Atrophie dieser Organe. Die Kastrationswirkung wird durch Testosteronverabreichung aufgehoben. Eine wesentliche Testosteronwirkung an den typischen Zielorganen besteht in einer Stimulation der Proteinsynthese (5).
Es wurde daher mit biochemischen Methoden zunächst untersucht, ob die durch Testosteron in Prostata und Samenblase der kastrierten Ratte stimulierte Proteinsynthese durch gleichzeitige Verabreichung von Cy bzw. CyAc hemmbar ist.

Eine besonders gut nachweisbare Testosteronwirkung in einem nichttypischen Zielorgan besteht in einer Steigerung der ß-Glucuronidase-Aktivität (ß-Gluc. Akt.) in der Niere der kastrierten männlichen Maus (6).
Um festzustellen, ob Cy bzw. CyAc auch in nichttypischen Zielorganen für Testosteron dessen Wirkung aufheben können, wurde mit biochemischen Methoden die ß-Gluc. Akt. in der Niere der kastrierten Maus unter dem Einfluß von Testosteron sowie unter dem Einfluß von Testosteron in Kombination mit Cy bzw. CyAc bestimmt.

1.2 Methodik

Tiermaterial:

Männliche Wistar-Ratten im Gewicht von 80 - 100 g bzw. 180 - 220 g wurden bei natürlichem Tag-Nacht-Beleuchtungsrhythmus gehalten. Die Tiere erhielten Latz-Futter und Wasser ad libitum.

Vorbehandlung der Tiere:

8-14 Tage nach Kastration wurde an drei aufeinanderfolgenden Tagen die zu untersuchenden Steroide, gelöst in Benzylbenzoat-Rizinusöl (6:4, V/v, B-R), s.c. injiziert.

Gewebepräparation:

24 Stunden nach der letzten Injektion wurden die Tiere durch Schlag auf den Kopf betäubt und nach Halsschnitt entblutet. Die ventrale Prostata und die Samenblasen wurden sehr rasch entnommen, durch mehrmaliges Eintauchen in eiskalte Krebs-Ringer-Bicarbonatpuffer (KRB) pH 7,4 gewaschen und von anhaftendem Gewebe befreit. Das in der Samenblase enthaltene Sekret wurde unter sehr leichtem Druck mit dem Spatel ausgestrichen, die Prostatakapsel entfernt. Die Organe wurden mit Filterpapier von der anhaftenden Flüssigkeit befreit. Nach Bestimmung des Organgewichtes wurden etwa 0,2 mm dicke Gewebeschnitte mit der Rasierklinge von Hand hergestellt.

Inkubation:

40 - 50 mg Gewebeschnitte wurden mit 0,2 µC $^{1-14}$C-Leucin (0,2 µMol) in 2 ml KRB-Puffer mit 200 mg%

Glucose in Schüttelthermostaten 60 Min. bei 30°C inkubiert. Diese Inkubationszeit wurde gewählt, da nach Vorversuchen der ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte normaler und kastrierter Ratten nach 60 Min. noch linear verlief.
Vor der Zugabe des Gewebes wurde der Puffer durch Einleiten eines Gemisches von 95 % O_2 + 5 % CO_2 1 Min. begast.

Proteinisolierung und Bestimmung des ^{14}C-Leucineinbaues:

Die Reaktion wurde durch Zugabe von 2 ml 20 %iger Trichloressigsäure (TCE) mit 130 mg% nicht radioaktiv markiertem Leucin gestoppt. Nach Überführen dieses Gemisches in das Homogenisatorgefäß wurde 1 Min. am Potter-Elvejhem-Homogenisator mit Teflonstempel homogenisiert. Das Homogenat wurde in ein Schliffzentrifugenglas überführt und 10 Min. kräftig geschüttelt, danach 30 Min. bei 0°C gehalten. Anschließend wurde 10 Min. bei 4000 Upm zentrifugiert. Das Sediment wurde zweimal mit 5 ml 10 %iger TCE extrahiert. Nach Zugabe der TCE wurde das Sediment mit einem Glasstab sehr sorgfältig zerkleinert, danach 10 Min. bei Zimmertemperatur geschüttelt.
Nach der zweiten TCE-Behandlung wurde das nach dem Zentrifugieren erhaltene Sediment mit 5 ml 5 %iger TCE 15 Min. bei 90°C unter mehrfachem Schütteln hydrolysiert. Nach der Hydrolyse wurde der Ansatz 10 Min. bei 0°C gehalten, danach der Niederschlag abzentrifugiert. Das Sediment wurde in 1 ml Perameisensäure (10 ml HCOOH + 2 ml 30 % H_2O_2) gelöst und 20 Min. bei Zimmertemperatur gehalten.

Danach wurde das Protein mit 5 ml 10 %iger TCE erneut gefällt. Der Ansatz wurde anschließend 10 Min. bei 0^{o}C gehalten, danach 10 Min. bei Zimmertemperatur geschüttelt und wiederum zentrifugiert. Das Sediment wurde zweimal mit 5 ml Aceton gewaschen, im leichten Luftstrom getrocknet und in 3 ml konzentrierter NH_4OH durch zweistündiges Schütteln bei 37^{o}C gelöst.
Von der ammoniakalischen Lösung wurden 2,5 ml in ein Packard-Meßgefäß überführt, bei 60^{o}C im Vakuum getrocknet und zur Radioaktivitätsmessung mit 20 ml Szintilator-Toluol versetzt. Zur Proteinbestimmung nach Lowry (7) wurden 0,02 ml der ammoniakalischen Lösung 30 Min. bei 100^{o}C zur Trockne gebracht.

1.3 Ergebnisse

1.3.1 Einfluß von Cyproteronacetat bzw. Cyproteron auf den in vitro-Einbau von ^{14}C-Leucin in Prostata und Samenblase nicht kastrierter männlicher Ratten.

Nach Neumann et al. (1) wird das Gewicht von Prostata und Samenblase nicht kastrierter Ratten durch mehrtägige Verabreichung von Cy bzw. CyAc sehr stark herabgesetzt.
In einem einleitenden Versuch wurde zunächst geprüft, ob der durch das Antiandrogen bedingten Gewichtsreduzierung von Prostata und Samenblase ein entsprechend verminderter Einbau von ^{14}C-Leucin in vitro korreliert ist.

180 - 220 g schwere Ratten erhielten an 8 aufeinanderfolgenden Tagen s.c. 30 mg Cy bzw. CyAc, die Kontrollen täglich s.c. 0,5 ml Benzylbenzoat-Rizinusöl. Der ^{14}C-Leucineinbau wurde am 9. Tag nach Behandlungsbeginn untersucht.

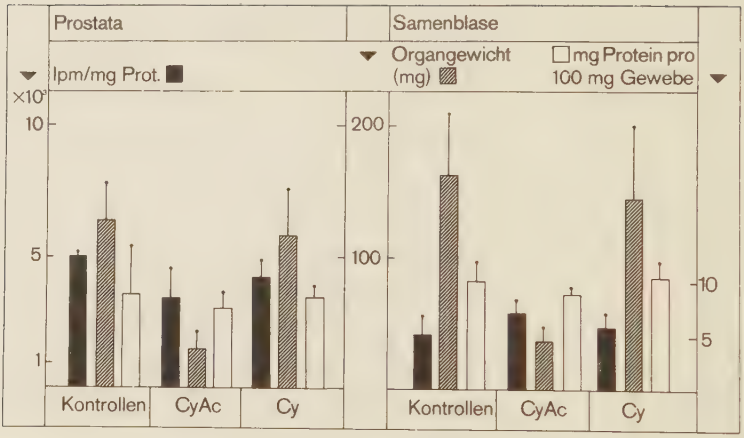


Abb. 1 ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte nicht kastrierter Ratten nach 8-tägiger s.c. Verabreichung von 30 mg Cy bzw. CyAc sowie das Feuchtgewicht der Organe und deren Proteingehalt.

Abb. 1 zeigt den ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte, außerdem die Organgewichte und den Proteingehalt pro 100 mg Feuchtgewebe.

Das Gewicht von Prostata und Samenblase wurde durch die CyAc-Verabreichung um annähernd 80 % vermindert. Trotz der starken Reduzierung der Organgewichte wurde der Proteingehalt pro 100 mg Feuchtgewebe im Mittel nur um ca. 10 % herabgesetzt. Die Abnahme des Proteingehaltes war statistisch nicht zu sichern. Unter dem Einfluß von Cy wurde das Organgewicht von Prostata und Samenblase nur um ca. 10 % herabgesetzt, der Proteingehalt dabei nicht verändert. CyAc führte in der Prostata zu einer 30 %igen Minderung des ^{14}C-Leucineinbaues. Im Gegensatz dazu wurde in vitro der ^{14}C-Leucineinbau in der Samenblase nach Vorbehandlung mit CyAc um ca. 35 % signifikant gesteigert.
Durch die Cy-Vorbehandlung wurde die in vitro Proteinsynthese in der Prostata,gemessen am ^{14}C-Leucineinbau, beim normalen Tier signifikant, allerdings nur um ca. 15 % herabgesetzt. In der Samenblase war der ^{14}C-Leucineinbau unter Cy nicht verändert. Die Steigerung um ca. 10 % war statistisch nicht zu sichern.

1. 3. 2 Einfluß von Cyproteronacetat auf den durch Testosteronpropionat stimulierten Einbau von ^{14}C-Leucin in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten.

Nach Untersuchungen von Kochakian (8) und William Ashman (9) führt Testosteronpropionat (TP) bei kastrierten Ratten zu einer Steigerung des ^{14}C-Leucineinbaues in Prostata- und Samenblasengewebe.
Nach endocrinologischen Untersuchungen von Neumann et al. (1) kann die durch TP erreichte Gewichtszunahme der Prostata und Samenblase kastrierter Ratten durch

gleichzeitige Verabreichung von Cy bzw. CyAc gehemmt werden.

Im folgenden Versuch wurde geprüft, ob die antiandrogene Wirkung von CyAc auch anhand des ^{14}C-Leucineinbaues in Prostata und Samenblase von TP-behandelten kastrierten Ratten nachweisbar ist.

Am 8., 9. und 10. Tag nach Kastration wurden die Ratten mit 0,1 mg TP in 0,2 ml Sesamöl s.c. sowie mit 0,1 mg TP in Kombination mit 5 mg CyAc in 0,5 ml Benzylbenzoat-Rizinusöl s.c. behandelt. Die Kontrollen erhielten s.c. nur die Lösungsmittel in entsprechenden Mengen.
Einen Tag nach der letzten Steroidverabreichung, d.h. am 11. Tag nach Kastration, wurde der ^{14}C-Leucineinbau in vitro untersucht.

Die Ergebnisse sind in Abb. 2 zusammengefaßt.

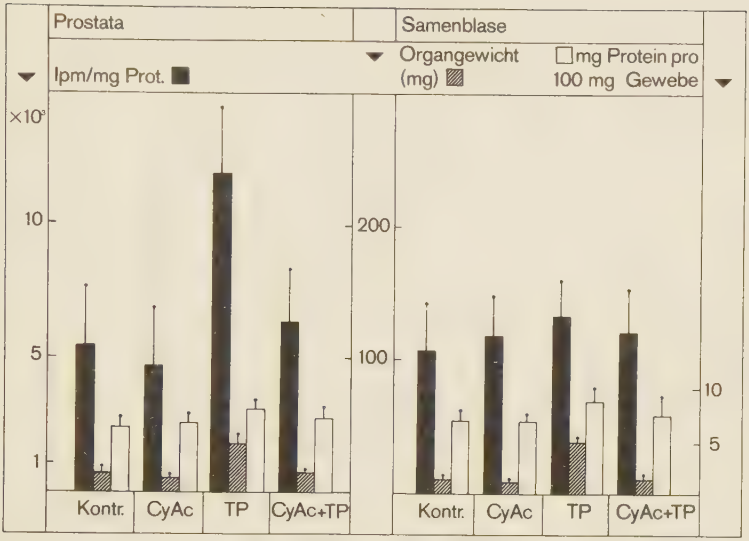


Abb. 2 1-^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten nach 3-tägiger s.c.-Verabreichung von 0,1 mg TP sowie 0,1 mg TP in Kombination mit 5 mg CyAc.

TP führte zu einem starken Gewichtsanstieg der Prostata und Samenblase der kastrierten Ratte. Dem Gewichtsanstieg war in der Prostata eine starke Zunahme des ^{14}C-Leucineinbaues pro mg Protein korreliert. Im Gegensatz dazu wurde in der Samenblase trotz des starken Gewichtsanstieges der auf mg Protein bezogene ^{14}C-Leucineinbau durch die TP-Behandlung nicht signifikant gesteigert. Durch die gleichzeitige Verabreichung von TP mit CyAc wurde an der Prostata der TP-bedingte Gewichtsanstieg und der erhöhte ^{14}C-Leucineinbau wieder aufgehoben. Bei der Samenblase wurde zwar der TP-bedingte Gewichtsanstieg aufgehoben, der ^{14}C-Leucineinbau aber wurde nicht signifikant verändert.

1.3.3 Einfluß von Progesteron auf den durch Testosteronpropionat stimulierten Einbau von ^{14}C-Leucin in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten.

Nach endocrinologischen Untersuchungen von Neumann et al. (1) besitzt CyAc neben seiner antiandrogenen Wirkung eine sehr starke gestagene Wirkung. Da nach Dorfmann et al. (10) Progesteron selbst antiandrogene Wirkung besitzt, wurde geprüft, ob Progesteron auch den durch TP stimulierten ^{14}C-Leucineinbau hemmen kann.

Am 8., 9. und 10. Tag nach Kastration erhielten die Ratten s.c. 0,1 mg TP in 0,2 ml Sesamöl sowie 0,1 mg TP in Kombination mit 30 mg Progesteron in 0,5 ml Sesamöl.
Einen Tag nach der letzten Steroidverabreichung wurde der ^{14}C-Leucineinbau in vitro untersucht.

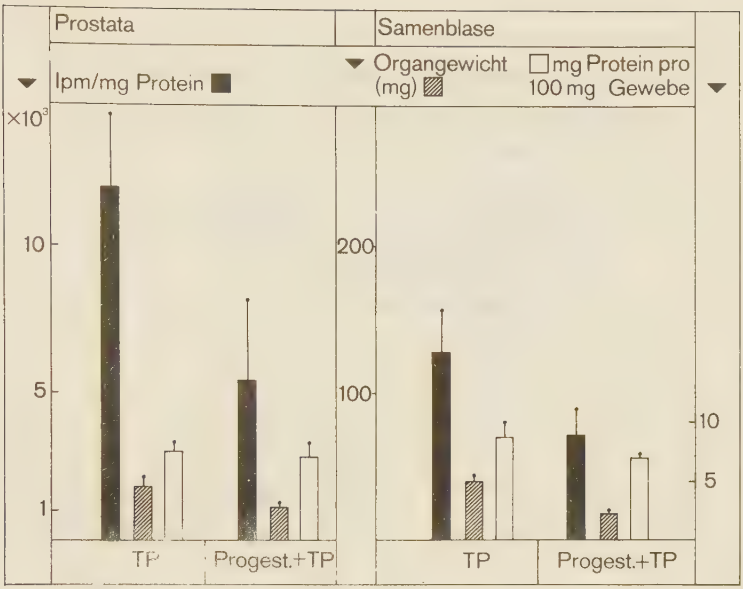


Abb. 3 1-^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten nach 3-tägiger s.c.-Verabreichung von 0,1 mg TP sowie 0,1 mg TP in Kombination mit 30 mg Progesteron.

Nach Abb. 3 wird das durch die TP-Behandlung erhöhte Gewicht von Prostata und Samenblase durch die gleichzeitige Verabreichung von Progesteron herabgesetzt. Wie CyAc verhinderte Progesteron an der Prostata die Zunahme des ^{14}C-Leucineinbaues durch die TP-Behandlung. Im Gegensatz zum CyAc führte Progesteron aber an der Samenblase neben der Gewichtsreduktion auch zu einer starken Abnahme des durch TP-stimulierten ^{14}C-Leucineinbaues pro mg Protein.

1.3.4 Einfluß von Östradiol und Östradiol in Kombination mit Cyproteronacetat auf den ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten.

Am 8., 9. und 10. Tag nach Kastration erhielten die Tiere s.c. 0,1 mg Östradiol sowie 0,1 mg Östradiol und 5 mg CyAc in 0,5 ml Benzylbenzoat-Rizinusöl.
Die Kontrollen s.c. nur die Lösungsmittel in entsprechenden Mengen.

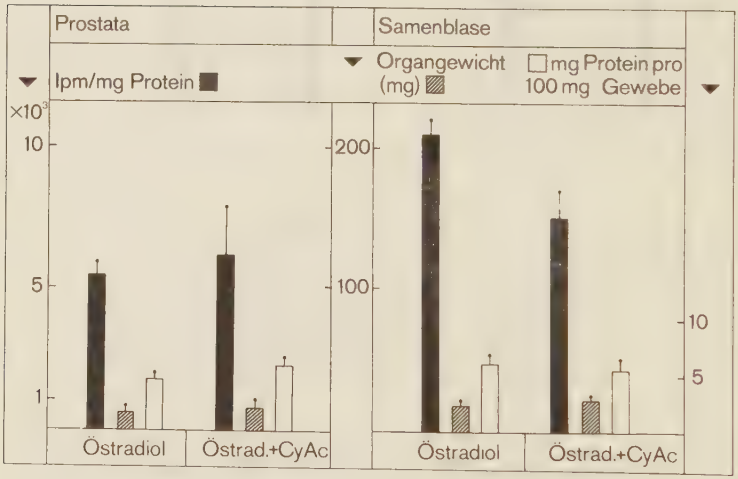


Abb. 4 1-^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte kastrierter Ratten nach 3-tägiger s.c.-Verabreichung von 0,1 mg Östradiol sowie 0,1 mg Östradiol in Kombination mit 5 mg CyAc.

An der Prostata wurde das Gewicht und der ^{14}C-Leucineinbau weder durch die alleinige Behandlung mit Östradiol noch durch die kombinierte Verabreichung von Östradiol und CyAc gegenüber den Kontrollen beeinflußt. Im Gegensatz dazu führte die 3-tägige Östradiolverabreichung an Samenblasenschnitten zu einer Zunahme des ^{14}C-Leucineinbaues und des Organgewichtes.

Durch die gleichzeitige subcutane Verabreichung von Östradiol mit CyAc wurde der durch Östradiol erhöhte ^{14}C-Leucineinbau wieder reduziert. Das durch Verabreichung von Östradiol erhöhte Gewicht der Samenblase wurde bei kombinierter Behandlung nicht verändert.

2 Untersuchungen zum Einfluß von Cyproteron und Cyproteronacetat auf die durch Testosteronpropionat, Metenolonacetat und Methandrostenolon erhöhte ß-Glucuronidase-Aktivität in der Niere der kastrierten Maus.

2.1 Einleitung

In zahlreichen Untersuchungen konnten Fishman et al. (11, 21) mit verschiedenen Androgenen eine deutliche Steigerung der ß-Gluc. Akt. in der Mäuseniere erreichen. Je nach Wirkungsintensität des Androgens konnte die ß-Gluc. Akt. in der Niere nicht kastrierter Tiere 2-16 fach gegenüber unbehandelten Kontrollen gesteigert werden. Dagegen führen nur wenige Pregnanderivate zu einer geringen Steigerung, während Östrogene und Progesteron keinen Einfluß haben. Unter den Androgenen steigert Testosteron die ß-Gluc. Akt. in der Niere sehr stark. Wie Fishman in seiner Übersichtsarbeit (12) zur ß-Glucuronidase der Mäuseniere gezeigt hat, wird durch Modifikation des Testosteronmoleküls die Wirkung des Testosterons auf die ß-Gluc. Akt. der Mäuseniere verstärkt oder vermindert. Eine klare Aussage zur Struktur-Wirkungsbeziehung ist aber nicht möglich.

Mit der durch Androgene gesteigerten ß-Gluc. Akt. in der Niere kommt es parallel zu einer vermehrten Ausscheidung von ß-Glucuronidase in den Harn (13). Diese Zunahme der ß-Gluc. Akt. im Urin ist abhängig vom Tierstamm und von der Struktur des aktiven Steroids.

Nach Untersuchungen von Fishman und Farmalant (15) an Leber, Niere und Milz der Maus gibt es höchst unterschiedliche ß-Gluc. Aktivitäten in diesen Organen bei verschiedenen Tierstämmen: Die Stämme BAF_1, CAF_1, 129, DBA zeigen hohe, die Stämme C_3H und AKR niedrige ß-Gluc. Akt.. Geschlechtsabhängige Differenzen der Enzymaktivität wurden bei den Stämmen BAF_1, CAF_1, AKR und DBA nachgewiesen. Die ß-Gluc. Akt. in der Niere männlicher Tiere war dabei höher als bei weiblichen Tieren. Bei den Stämmen C_3H und 129 waren keine geschlechtsspezifischen Unterschiede nachweisbar. Nach histochemischen Untersuchungen von Neumann und Hahn (14) war in der Nierenrinde weiblicher Mäuse die ß-Gluc. Akt. niedriger als bei männlichen Tieren. Kastration führte bei männlichen Tieren zu einer Abnahme histochemisch nachweisbarer Enzymaktivität. Dieser Kastrationseffekt konnte durch TP-Verabreichung aufgehoben werden.

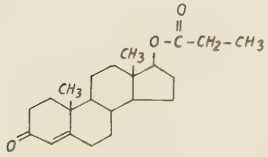
Obwohl die Niere kein typisches Zielorgan für Testosteron ist, entfaltet Testosteron dort doch eine erhebliche Wirkung auf die ß-Gluc. Akt.. Die sowohl chemisch als auch histochemisch nachgewiesene Zunahme der ß-Gluc. Akt. in der Mäuseniere unter dem Einfluß von Testosteron ist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine Stimulation der ß-Glucuronidase-Synthese, d. h. auf eine Enzyminduktion, zurückzuführen. Dafür sprechen Einbauversuche mit ^{14}C-Glycin (16) und Hemmversuche mit Actinomycin D. (17).

Nach Neumann et al. (18) kann man mit Antiandrogenen die in ihrer Funktion und Morphologie androgenabhängigen Organsysteme beeinflussen. Er zeigte, daß das Antiandrogen Cyproteron mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit in androgenabhängigen Zielorganen als kompetitiver Inhibitor des Testosterons wirkt. Er konnte aber mit histochemischen Methoden wahrscheinlich machen (14), daß das Antiandrogen auch in der Mäuseniere als nicht typischem Zielorgan für Testosteron dessen Wirkung auf die ß-Gluc-Akt. hemmt.
In dieser Arbeit wurde mit biochemischen Methoden am Nierengewebe männlicher Mäuse untersucht, ob die Steigerung der ß-Gluc. Akt., bedingt durch androgen und anabol wirksame Steroide, durch Cy bzw. CyAc zu beeinflussen ist.

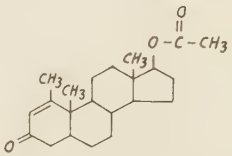
2.2 Methodik

Substanzen: Phenolphthaleinglucuronid

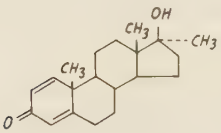
Steroide: Testosteronpropionat (TP), Metenolonacetat[+] (Met-Ac), Methandrostenolon[++] (M-And), Cyproteron (Cy) und Cyproteronacetat (CyAc).



Testosteronpropionat



Metenolonacetat



Methandrostenolon

Lösungen: Myrij 53-Kochsalz. Lösung, Benzylbenzoat, Rizinusöl, Sesamöl, Acetatpuffer, Glycinpuffer.

Die ß-Gluc. Akt. im Nierengewebe der Maus wurde nach einer gering modifizierten Methode von Talalay et al. (12) bestimmt. TP, Met-Ac und M-And wurden in Sesamöl gelöst s.c. oder i.m. verabreicht.

[+] Primobolan[R] : Fa. Schering AG

[++] Dianabol[R]: Fa. Ciba-Geigy AG

Cy und CyAc wurden mikronisiert, in Myrij 53-Kochsal z-Lösung suspendiert und s.c. verabreicht oder in Benzylbenzoat : Rizinusöl (1:20 v/v) gelöst und i.m. bzw. s.c. injiziert. Es wurde jeweils 0,1 ml/die/Tier verabreicht. Die verabreichte Steroidmenge und die Verabreichungsdauer sind bei den jeweiligen Versuchen angegeben. Das Phenolphthaleinglucuronid wurde nach di Somma (19) hergestellt.

Acetat-Puffer: 0,1 molar, pH 4,5
Glycin-Puffer: 0,4 molar, pH 10,45 (18)

Es wurden in allen Versuchen männliche NMRI-Mäuse aus eigener Zucht verwendet. Körpergewicht ca. 18-20 g, Alter ca. 1-2 Monate. Die Mäuse wurden bei 22°C gehalten und erhielten Futter und Wasser ad libitum.
Nach Kastration wurden die Tiere 14 Tage unter diesen standardisierten Bedingungen gehalten. Die Steroide wurden danach 12 Tage s.c. oder i.m. unter Verwendung verschiedener Zubereitungsformen verabreicht.
Die Tiere wurden nach Kopfschlag dekapitiert und entblutet. Die Nieren wurden sofort entnommen, die Kapsel entfernt, mit Filterpapier abgetrocknet und gewogen. Nach Zerkleinern mit einer Schere wurden die Nieren in 5 ml Acetatpuffer mit dem Potter-Elvehjem-Homogenisator 2 Min. unter Eiskühlung bei 700 UPM homogenisiert. Das Homogenat wurde mit Acetatpuffer ad 25 ml gebracht und zur Inkubation in Abhängigkeit von

der zu erwartenden ß-Gluc. Akt. weiter verdünnt, so daß bei der Endbestimmung im Bereich von 1 bis 2 µg Phenolphthalein/ml abgelesen werden konnte. Die geeignete Verdünnung wurde durch Vorversuche ermittelt.
Das Nierengewebe wurde bis zur Inkubation unter Eiskühlung gehalten.

Standard-Inkubationsansatz

0,5 ml Homogenat
0,5 ml 10^{-3} m frisch bereitete Phenolphthalein-glucuronid-Lösung in Acetatpuffer.

Inkubation: 60 Min. in Schüttelthermostaten bei 37°C unter Luft. Reaktionsstop mit 4 ml Glycinpuffer, pH 10,45. Nach Zugabe des Glycinpuffers wurde 10 Min. bei 3000 UPM zentrifugiert. Das in Freiheit gesetzte Phenolphthalein wurde im dekantierten Überstand in Glasküvetten mit 20 mm Lichtweg bei 546 nm im Spektralphotometer Zeiss PMQ II gemessen. Die Messung erfolgte gegen einen parallel bereiteten Leerwert, bei dem anstelle des Homogenates 0,5 ml Acetatpuffer eingesetzt wurde. Die Bestimmung der Phenolphthalein-Konzentration erfolgte anhand einer Eichkurve im Bereich von 0-4 µg/ml.
Die Aktivität der ß-Glucuronidase wird in Fishman-Einheiten pro 1 Gramm Nierenfeuchtgewicht angegeben. 1 Fishman-Einheit (F.E.) ist die Enzymmenge, die 1 µg Phenolphthalein/ml/Std. freisetzt.

2.3 Ergebnisse

2.3.1 Einfluß der Kastration auf Gewicht und ß-Glucuronidase-Aktivität der Niere männlicher Mäuse.

In Abb. 5 sind Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der normalen und kastrierten männlichen Maus gegenübergestellt. Die Untersuchungen wurden 14 Tage nach Kastration durchgeführt.

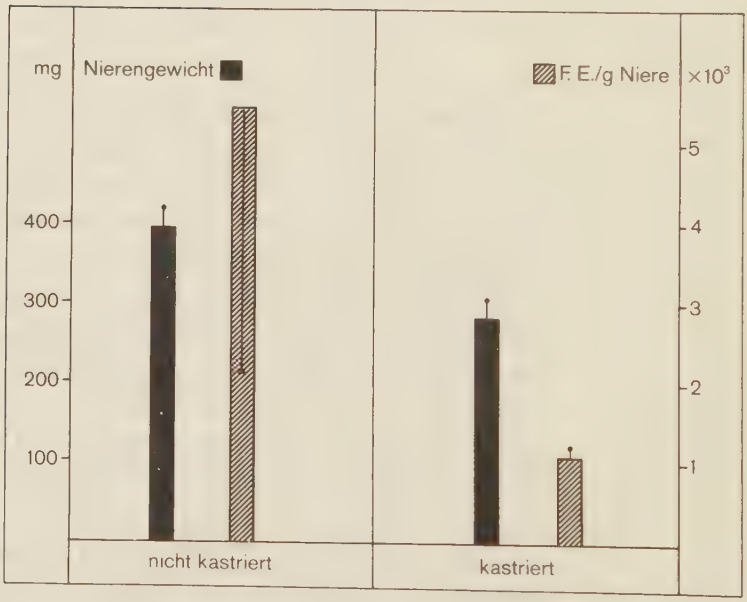


Abb. 5 Gewicht in mg und ß-Gluc. Akt. in Fishman-Einheiten pro g Feuchtgewebe der Niere von normalen und von kastrierten männlichen Mäusen.

Das Gewicht der Niere nimmt durch die Kastration im Mittel von ca. 400 mg auf ca. 280 mg, d.h. um ca. 30 %, die ß-Gluc. Akt. von ca. 5000 F.E. auf ca. 1000 F.E., d.h. um ca. 80 %, ab.
Die Verminderung der ß-Gluc. Akt. ist nach Kastration wesentlich stärker als die Gewichtsabnahme.

2.3.2 Einfluß von TP auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten männlichen Maus.

Nach Abb. 6 nehmen Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus bei jeweils 12-tägiger subcutaner Injektion steigender TP-Mengen zu.

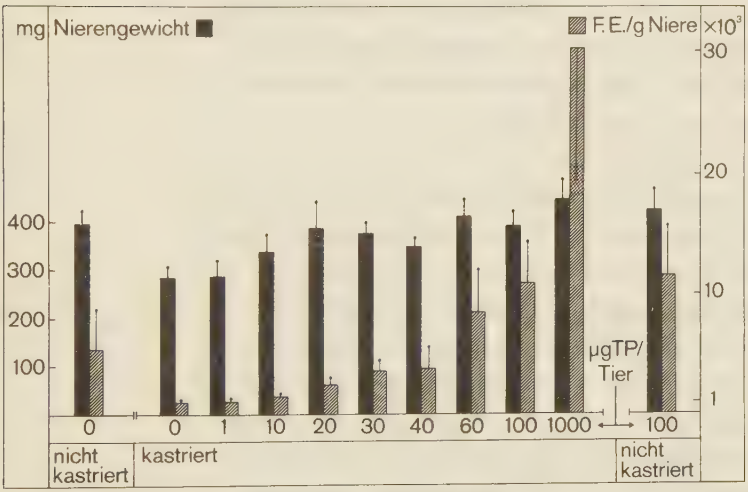


Abb. 6 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus in Abhängigkeit von der jeweils 12 Tage s.c. verabreichten TP-Menge.
Zum Vergleich ist die Wirkung von 100µg TP bei der nicht kastrierten Maus angegeben.

Durch tägliche Verabreichung von ca. 50µ g TP wird die ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter Tiere normalisiert. Durch höhere TP-Dosen werden Gewicht und ß-Gluc. Akt. über die Werte der nicht kastrierten Tiere hinaus gesteigert. Dabei nimmt die ß-Gluc. Akt. bei Steigerung der Dosis bis auf 1000 µg TP pro Tag wesentlich stärker zu als das Gewicht. Die Gewichtssteigerung mit 1000µg TP pro Tag beträgt gegenüber den unbehandelten kastrierten Tieren ca. 40 %. Die ß-Gluc. Akt. wird demgegenüber etwa um den Faktor 30 gesteigert. Auch bei nicht kastrierten Tieren wird durch 12-tägige Verabreichung von 100 µg TP das Gewicht der Niere im Mittel sehr gering, die ß-Gluc. Akt. aber stark gesteigert. Die Gewichtszunahme war statistisch nicht zu sichern. 100µ g TP führten sowohl bei der kastrierten als auch bei der nicht kastrierten männlichen Maus zu der gleichen ß-Gluc. Akt. in der Niere.

Aus den vorstehend beschriebenen Versuchen zur TP-Wirkung kann man folgern, daß der Testosteronspiegel der normalen nicht kastrierten Maus ausreicht, das Wachstum der Niere maximal zu stimulieren. Das ergibt sich einmal aus der Tatsache, daß selbst höchste TP-Dosen das Nierengewicht nicht signifikant über den Wert der nicht kastrierten unbehandelten Tiere steigern können, zum anderen aus dem Befund, daß das Nierengewicht unbehandelter nicht kastrierter Kontrolltiere durch TP nicht mehr zu erhöhen ist.

Im Gegensatz dazu ist offensichtlich die ß-Gluc. Akt. der Niere beim Testosteronspiegel der nicht kastrierten unbehandelten Maus nicht maximal stimuliert; das ergibt sich einmal aus der Tatsache, daß die ß-Gluc. Akt. in der Niere der kastrierten Maus durch Testosteronverabreichung weit über den Wert der nicht kastrierten Kontrollen gesteigert werden kann, zum anderen aus dem Befund, daß die ß-Gluc. Akt. in der Niere der nicht kastrierten Kontrolltiere durch TP-Verabreichung nocht wesentlich erhöht werden kann.

In hier im einzelnen nicht wiedergegebenen Versuchen wurde die Zeitabhängigkeit der Gewichtszunahme der Niere und der Steigerung der ß-Gluc. Akt. bei täglicher subcutaner Verabreichung von 100 µg TP ermittelt. Nach diesen Versuchen erreichten die Gewichts- und Enzymaktivitätskurven nach 8-tägiger Verabreichung ein Plateau. Für die folgenden Versuche wurde daher einheitlich eine Behandlungsdauer von 12 Tagen gewählt.

2.3.3 Einfluß der anabolen Steroide Met-Ac und M-And auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. in der Niere der kastrierten männlichen Maus.

Aus den Abb. 6, 7 und 9 folgt, daß die Wirkung von Met-Ac auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. kastrierter Tiere etwa der des TP entspricht. Im Gegensatz dazu ist die Wirkung des M-And wesentlich geringer (Abb. 8).

Durch etwa 30 µg TP bzw. 30 µg Met-Ac wurden die Kastrationsfolgen in Hinsicht auf das Gewicht und die ß-Gluc. Akt. aufgehoben.
Nach Abb. 8 und 9 ist M-And, gemessen an der Gewichtszunahme der Niere und der Steigerung der ß-Gluc. Akt., wesentlich weniger wirksam als TP und Met-Ac. Die in Abb. 6-8 wiedergegebenen Ergebnisse zur ß-Gluc. Akt. sind in Abb. 9 zusammengefaßt.

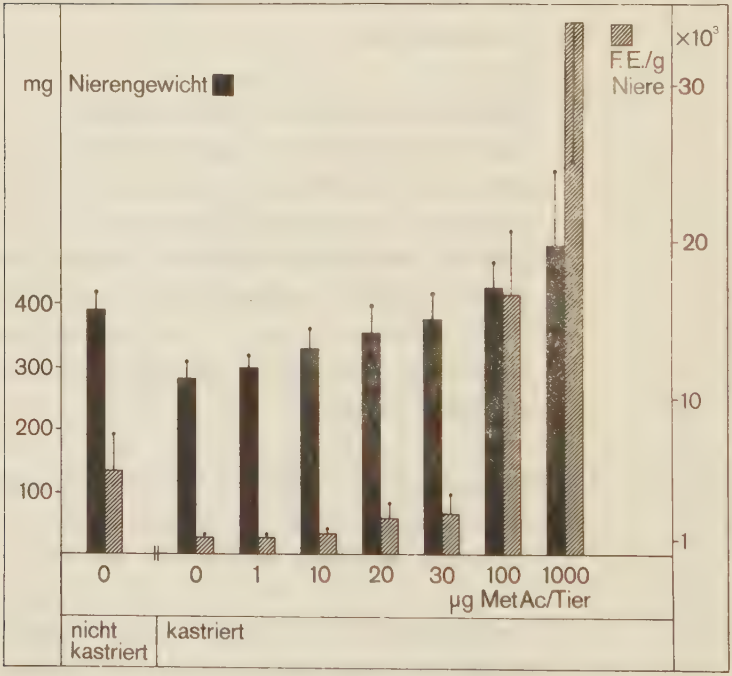


Abb. 7 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus in Abhängigkeit von der jeweils 12 Tage s.c. verabreichten Metenolonacetatmenge.

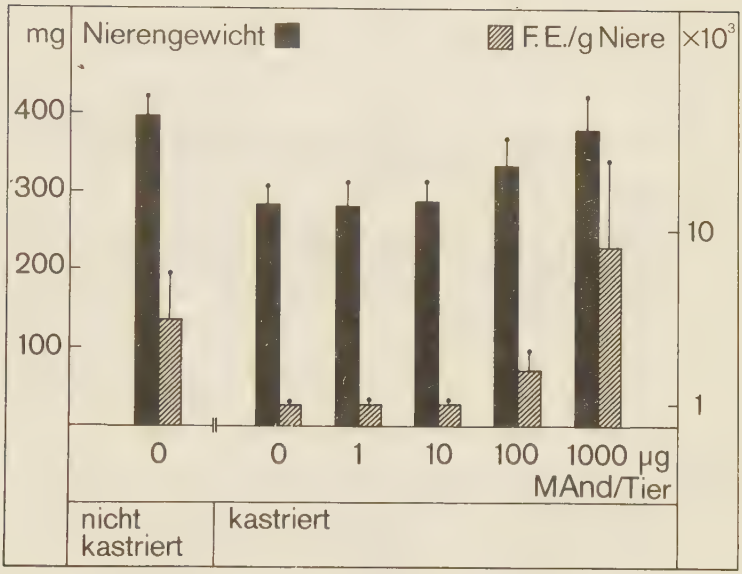


Abb. 8 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus in Abhängigkeit von der jeweils 12 Tage s.c. verabreichten M-And. - Menge.

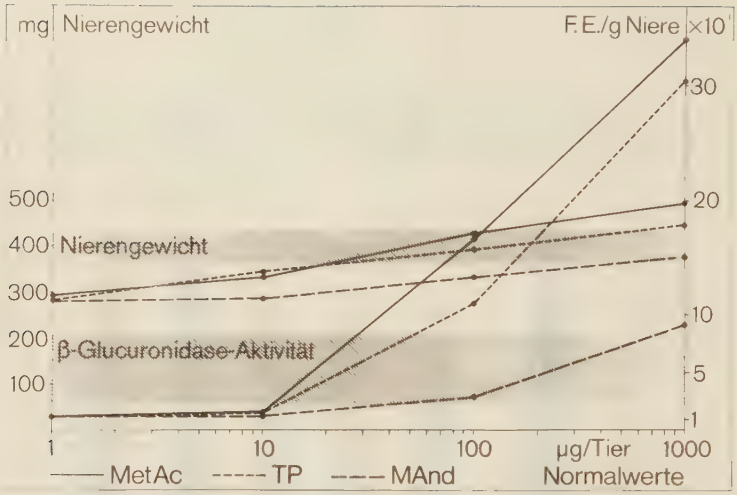


Abb. 9 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus in Abhängigkeit von der Steroiddosis bei 12-tägiger Verabreichung von TP, Met-Ac und M-And.

Nach Abb. 9 wurde die ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus durch die tägliche Behandlung mit 250 µg M-And normalisiert. Das Nierengewicht der nicht kastrierten Kontrolltiere wurde aber erst durch ca. 500 µg M-And/die erreicht, d. h. zur Normalisierung des Nierengewichtes ist eine höhere Dosis M-And erforderlich als zur Normalisierung der ß-Gluc. Akt.

Im Gegensatz dazu wurden, wie bereits erwähnt, beim TP und Met-Ac das Nierengewicht und die ß-Gluc. Akt. bereits durch eine tägliche Dosis von ca. 30 µg normalisiert.

2.3.4 Einfluß von Cy und CyAc auf das Gewicht und die ß-Gluc. Akt. in der Niere der kastrierten männlichen Maus.

Das Ziel der Untersuchungen war es festzustellen, ob die Wirkung von TP, Met-Ac und M-And auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter Mäuse durch Cy bzw. CyAc zu beeinflussen waren. Es war daher notwendig, zunächst festzustellen, ob Cy bzw. CyAc selbst Gewicht und ß-Gluc. Akt. beeinflussen.
Zur Klärung dieser Fragen wurde kastrierten Mäusen unterschiedliche Cy-Dosen in verschiedenen Applikationsarten und CyAc in der Dosis von 3,0 mg i.m. verabreicht. Die Ergebnisse sind in Abb. 10 zusammengefaßt.

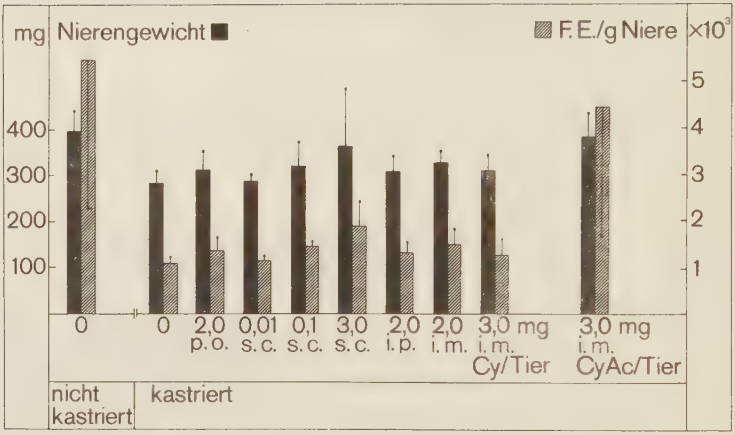


Abb. 10 Einfluß von Cy und CyAc auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter männlicher Mäuse, Verabreichungsdauer 12 Tage.

Bei der Verabreichung von Cy wurde unabhängig davon, ob die Verbindung i.m. oder s.c. appliziert wurde, das Nierengewicht in einigen Fällen nur geringfügig erhöht, ohne daß aber die Gewichtszunahme statistisch zu sichern war. Nur nach subcutaner Injektion von 3 mg Cy wurde im Mittel das Nierengewicht normaler Tiere erreicht. Das für das Nierengewicht Gesagte gilt nach

Abb. 10 auch für die ß-Gluc. Akt. der Niere. Auch dabei wurde lediglich durch die subcutane Injektion von 3 mg Cy die Enzymaktivität in der Niere der kastrierten Maus so stark erhöht, daß die Zunahme statistisch zu sichern war. Im Gegensatz zum Cy zeigt das CyAc, gemessen am Nierengewicht und der ß-Gluc. Akt., eine ausgeprägte androgene Wirkung, so daß durch i. m. Injektion von 3 mg CyAc nicht nur das Nierengewicht, sondern auch die ß-Gluc. Akt. in der Niere der kastrierten Maus normalisiert wird. Dabei wird die ß-Gluc. Akt. etwa um den Faktor 5 erhöht.

2. 3. 5 Einfluß von Cy und CyAc auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. in der Niere der nicht kastrierten männlichen Maus.

Nach den endocrinologischen Untersuchungen von Neumann et al. führt die Verabreichung von Cy bzw. CyAc bei nicht kastrierten Ratten zu einer Involution von Prostata und Samenblase (1). Im folgenden Versuch wurde geprüft, ob bei der normalen Maus die Wirkung des endogenen Testosterons auf das Nierengewicht und die ß-Gluc. Akt. durch Cy bzw. CyAc hemmbar ist. Nicht kastrierte Mäuse wurden mit steigender Cy-Dosis s. c. sowie einer hohen Dosis CyAc i. m. 12 Tage behandelt (Abb. 11).

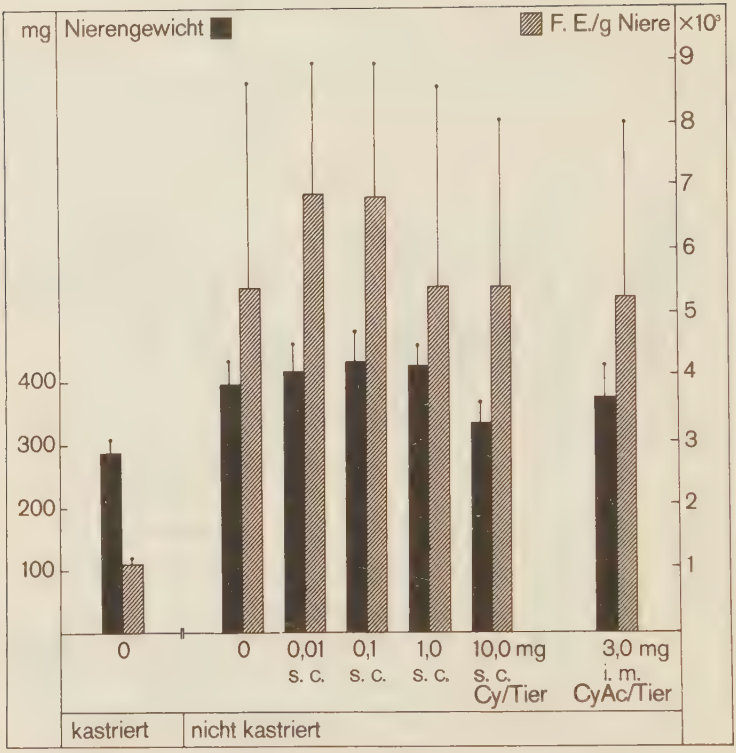


Abb. 11 Einfluß von Cy und CyAc auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere nicht kastrierter männlicher Mäuse, Verabreichungsdauer 12 Tage.

Nach der Injektion von 0,01, 0,1 und 1,0 mg Cy subcutan war eine Änderung des Nierengewichtes der nicht kastrierten Maus statistisch nicht zu sichern. Die ß-Gluc. Akt. wurde zwar durch 0,01 und 0,1 mg Cy im Mittel erhöht, statistisch war der Anstieg aber nicht zu sichern. Erst bei Erhöhung der täglichen Dosis auf 10 mg Cy subcutan wurde das Nierengewicht der nicht kastrierten Maus signifikant vermindert. Dabei wurde die unter dem Einfluß von 0,01 und 0,1 mg Cy angedeutete Zunahme der ß-Gluc. Akt. wieder aufgehoben. Die Enzymaktivität unter 10 mg Cy s.c. wurde aber nicht unter den bei der normalen Maus vorhandenen Wert gesenkt.

Selbst das von Neumann et al. gegenüber Cy als sehr viel stärker antiandrogen beschriebene CyAc (1) führte bei der nicht kastrierten Maus in einer Dosis von 3 mg i.m. nur zu einer angedeuteten, aber nicht signifikanten Herabsetzung des Nierengewichtes. Die ß-Gluc. Akt. blieb unverändert.

Aus diesen Untersuchungen folgt, daß,im Gegensatz zu der starken Antiandrogenwirkung auf Prostata und Samenblase nicht kastrierter Ratten , die ß-Gluc. Akt. der Niere der nicht kastrierten Maus sehr viel weniger durch diese Antiandrogene beeinflußbar ist.

2. 3. 6 Einfluß von Testosteronpropionat in Kombination mit Cyproteron auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter männlicher Mäuse.

In den folgenden Untersuchungen wurde zur Stimulation der ß-Gluc. Akt. mit einer möglichst geringen Androgendosis gearbeitet. Diese Androgendosis sollte die ß-Gluc. Akt. in der Niere der kastrierten Maus zwar gerade signifikant erhöhen, sollte aber gleichzeitig sehr niedrig sein, um ein möglichst hohes Dosisverhältnis Antiandrogen zu Androgen zu erhalten. Dieser Forderung lagen die Untersuchungsergebnisse von Neumann et al. zugrunde, die tierexperimentell Cy als peripheren Testosteronantagonisten charakterisierten (1, 18, 20).
CyAc stimulierte selbst bereits die ß-Gluc. Akt. in der Niere der kastrierten Maus so stark wie niedrige Dosen TP. In den folgenden Versuchen wurde daher CyAc nicht verwendet, als Antiandrogen wurde wegen seiner geringen Eigenwirkung das Cy benutzt.
In einem orientierenden Versuch wurde zunächst geprüft, ob die Wirkung von 100 µg TP bei 12-tägiger Verabreichung durch steigende Dosen von Cy (0,1 mg; 1,0 mg und 10,0 mg s. c.) zu beeinflussen war, Abb. 12.

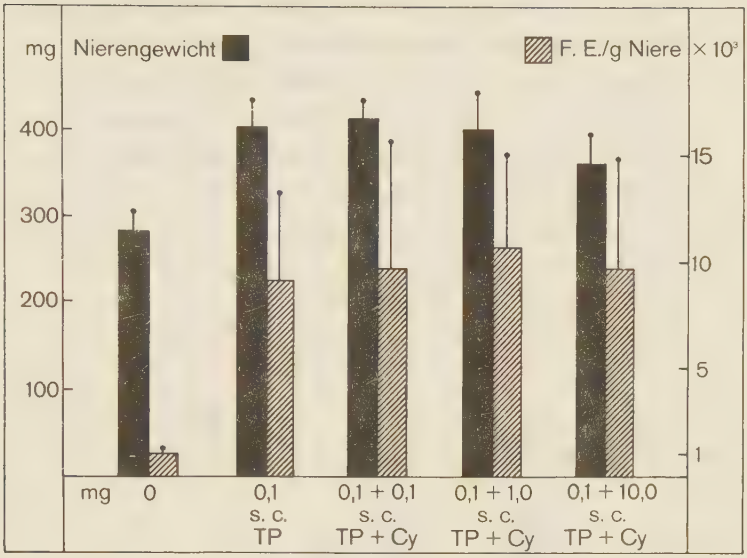


Abb. 12 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter Mäuse unter dem Einfluß von 100µg TP mit steigenden Dosen Cy, Verabreichungsdauer 12 Tage.

Aus Abb. 12 geht hervor, daß Cy, selbst in einer Dosis von 10,0 mg, die Wirkung von 100µg TP nicht aufhebt. Da die Antiandrogenwirkung des Cy nach den Untersuchungen von Neumann et al. am besten über eine kompetitive Hemmung des Testosteron durch das Antiandrogen erklärbar ist (1, 18, 20), lag es nahe, die fehlende Cy-Wirkung in diesem Versuch mit einer Überdosierung des TP zu erklären, d. h., daß unter den angewandten Dosisverhältnissen die Cy-Konzentration im Organismus nicht ausreichte, die Wirkung der täglich verabreichten TP-Menge zu blockieren.

Daher wurde in einem weiteren Versuch die tägliche TP-Menge auf eine Dosis vermindert, die nach Abb. 7 noch zu einer signifikanten Steigerung der ß-Gluc. Akt. führte. Cy wurde möglichst hoch dosiert, um, wie bereits gesagt, im Hinblick auf den postulierten kompetitiven Hemmungsmechanismus die Dosisrelation Cy zu TP möglichst groß zu machen. Es wurden 30 µgTP und 3 mg Cy verabreicht. Nach Abb. 7 und Abb. 11 war nämlich die Wirkung von 30 µgTP auf die ß-Gluc. Akt. deutlich höher als die Eigenwirkung von 3 mg Cy (Abb. 13).

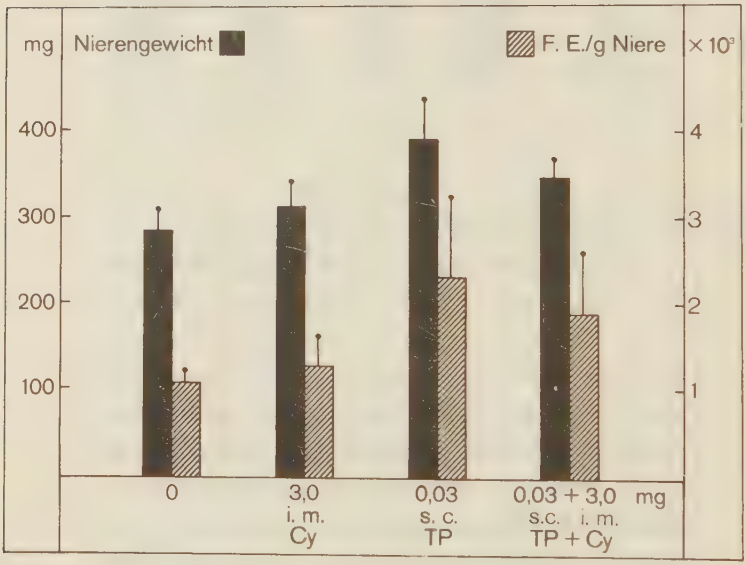


Abb. 13 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter männlicher Mäuse unter dem Einfluß von 30 µg TP s. c. in Kombination mit 3 mg Cy i. m., Verabreichungsdauer 12 Tage.

Nach Abb. 13 führten 30 µg TP s. c., über 12 Tage verabreicht, zu einer signifikanten Zunahme von Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter Mäuse gegenüber der alleinigen Verabreichung von Cy i. m. Durch die kombinierte Behandlung mit 30 µg TP und 3 mg Cy i. m. wurden zwar ß-Gluc. Akt. und Gewicht im Mittel geringfügig gesenkt, dies war statistisch aber nicht zu sichern. Gleiches gilt auch, wenn Cy subcutan verabreicht wurde (Abb. 14).

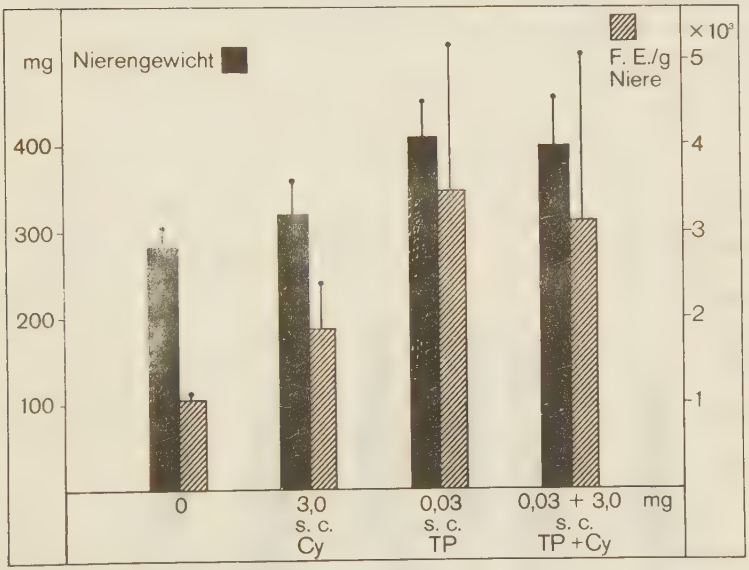


Abb. 14 Gewicht und ß-Gluc. Akt. männlicher kastrierter Mäuse unter dem Einfluß von 30 µg TP s. c. in Kombination mit 3 mg Cy s. c.

Nach Abb. 12-14 war eine signifikante Beeinflussung der TP-Wirkung auf ß-Gluc. Akt. und Gewicht der Mäuseniere durch gleichzeitige Verabreichung von Cy nicht nachweisbar.

2.3.7 Einfluß von Cy in Kombination mit Met-Ac auf das Gewicht und die ß-Gluc. Akt. kastrierter männlicher Mäuse.

Nach den in Abb. 9 dargestellten einleitenden Versuchen war Met-Ac, gemessen an der ß-Gluc. Akt. der Mäuseniere, praktisch genauso wirksam wie TP. In den folgenden Versuchen wurde geprüft, ob die durch Met-Ac stimulierte ß-Gluc. Akt. durch Cy zu beeinflussen war.
Ein einleitender Versuch, bei welchem eine gleichbleibende Dosis von Met-Ac (20 µg s.c.) und steigende Cyproterongabe (20 µg, 200 µg, 2 mg i.m.) verabreicht wurden, sollte zeigen, bei welcher Kombination eine Beeinflussung der Met-Ac-Wirkung möglich ist.

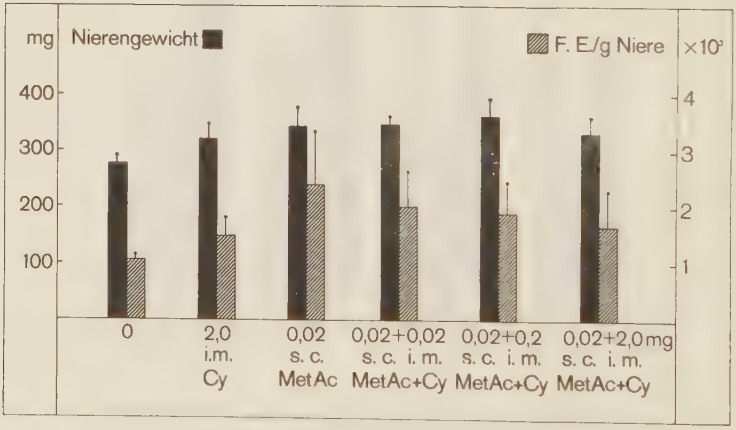


Abb. 15 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter männlicher Mäuse unter dem Einfluß von 20 µg Met-Ac s.c. und steigender Cy-Gaben. (20 µg, 200 µg, 2 mg i.m.)

Bei der kombinierten Verabreichung von 20 µg Met-Ac s.c. und 2 mg Cy i.m. wurde das Nierengewicht nur leicht, nicht aber signifikant verringert. Demgegenüber verminderte sich die ß-Gluc. Akt. gegenüber der alleinigen Verabreichung von 20 µg Met-Ac um ca. 30 %, eine Signifikanz ließ sich aber nicht nachweisen.

Nach diesem Versuch schien das Verhältnis Androgen : Antiandrogen 1 : 100 eine Beeinflussung des anabolen Effektes zu bewirken. In den Untersuchungen von Neumann et al. (1) wurde im gleichen Dosisverhältnis eine deutliche Wachstumshemmung TP-abhängiger Organsysteme wie z.B. Prostata und Samenblase beobachtet.

In einem weiteren Versuch wurde mit 30 µg Met-Ac s.c. bei gleichzeitiger Verabreichung der hundertfachen Cy-Dosis i.m. versucht, eine Beeinflussung der Met-Ac-Wirkung zu erreichen.

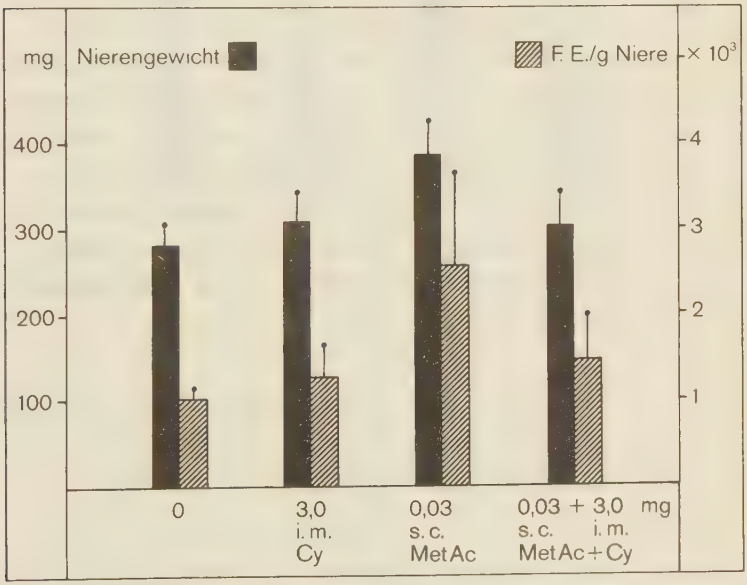


Abb. 16 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter männlicher Mäuse unter 30µg Met-Ac s.c. in Kombination mit 3 mg Cy i.m.

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Ergebnissen wurde bei der Kombination von 30 µg Met-Ac s.c. mit 3 mg Cy i.m. die Wirkung des Met-Ac auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere signifikant vermindert (Abb. 16).

In mehreren hier im einzelnen nicht wiedergegebenen Versuchen zeigte sich, daß bei i.p. und s.c. Applikation des Cy die Wirkung des s.c. verabreichten Met-Ac nicht signifikant vermindert wurde.

2.3.8 Einfluß von Cy in Kombination mit M-And auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter männlicher Mäuse.

Im Gegensatz zu den in Abb. 16 wiedergegebenen Versuchsergebnissen wurde die Wirkung von 100 µg M-And s.c. durch die Kombination mit 3 mg Cy i.m. nicht signifikant vermindert (Abb. 17). Diese als Stichversuch zu wertende Untersuchung zum M-And erlaubt noch keine sichere Aussage in der Frage der Beeinflussung der Wirkung von M-And durch Cy, da möglicherweise unter anderen Versuchsbedingungen (Applikationsart und Dosisrelation) eine Hemmung der M-And-Wirkung durch das Antiandrogen nachzuweisen ist.

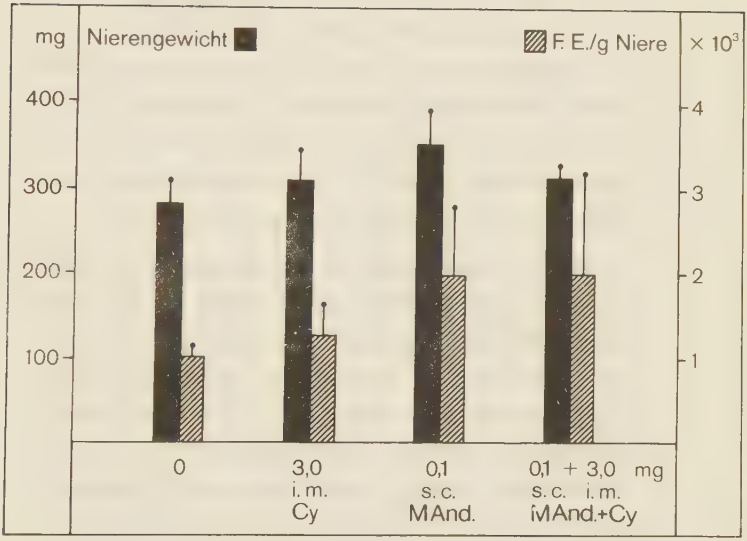


Abb. 17 Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter männlicher Mäuse unter dem Einfluß von 100 M-And. s.c. in Kombination mit 3 mg Cy i. m.

3 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit sollte mit biochemischen Methoden die Frage bearbeitet werden, ob die antiandrogen wirksamen Verbindungen Cy bzw. CyAc in der Lage sind, die Testosteronwirkung auch in der Niere als einem nichttypischen Zielorgan für Androgene zu hemmen. Da sich nach Untersuchungen von C.D. Kochakian (5, 8) und W.H. Fishman (6, 11, 12, 13, 14, 21) die Testosteronwirkung an der Niere besonders durch einen starken Anstieg der ß-Glucuronidase-Aktivität äußert, wurde diese Enzymaktivität bei der Mäuseniere als Meßgröße für die Testosteronwirkung sowie für die antiandrogene Wirkung von Cy und CyAc benutzt.

Vor Durchführung dieser Untersuchungen sollte biochemisch an Samenblase und Prostata - den typischen Zielorganen des Testosterons - die Beeinflussung der Testosteronwirkung durch Cy und CyAc geprüft werden. Als Parameter der Testosteronwirkung bzw. Antiandrogenwirkung von Cy und CyAc wurde der ^{14}C-Leucineinbau in Prostata- und Samenblasenschnitte der Ratte in vitro benutzt.

Neumann et al. (1) zeigten, daß CyAc bei nicht kastrierten Ratten bei etwa 10-tägiger Verabreichung das Prostata- und Samenblasengewicht ungefähr auf die Werte kastrierter Tiere reduziert. In den vorliegenden Untersuchungen (Abb. 1 u. 2) wurde das Gewicht von Prostata und Samenblase normaler männlicher Ratten durch CyAc ebenfalls annähernd auf Kastrationswerte herabgesetzt. Durch die Kastration (Abb. 1 u. 2) wurde das Gewicht von Prostata und Samenblase sehr stark reduziert.

Der in vitro-^{14}C-Leucineinbau pro mg Protein wurde aber durch die Kastration bei der Prostata nicht vermindert, bei der Samenblase sogar gegenüber den nicht kastrierten Kontrollen erhöht. Daraus folgt, daß das nach Kastration verbleibende restliche Prostatagewebe noch die Aktivität zum ^{14}C-Leucineinbau in vitro besitzt wie Prostatagewebe nicht kastrierter Ratten, wenn man den Leucineinbau auf mg Organprotein bezieht.
Wie bereits erwähnt, entspricht die CyAc-Behandlung einer normalen männlichen Ratte, gemessen am Prostatagewicht, einer Kastration. Die Behandlung mit CyAc führt an der Prostata zu einer Verminderung des auf mg Organprotein bezogenen ^{14}C-Leucineinbaues (Abb. 1).

Bei der Samenblase waren die Befunde zum ^{14}C-Leucineinbau nach Kastration bzw. CyAc-Behandlung wesentlich von den bei der Prostata erhaltenen Ergebnissen verschieden. Obgleich das Gewicht der Samenblase durch Kastration stark gesenkt wurde, war der ^{14}C-Leucineinbau pro mg Organprotein nach Kastration erhöht (Abb. 1 u. 2). Qualitativ wirkt die CyAc-Behandlung der normalen Ratte an der Samenblase gemessen am ^{14}C-Leucineinbau wie eine Kastration, d. h., sie führt zu einer angedeuteten Zunahme des ^{14}C-Leucineinbaues pro mg Protein. Der ^{14}C-Leucineinbau imponiert bei der Samenblase nach Kastration bzw. CyAc-Behandlung als "paradoxer Effekt", besonders wenn man die starke Gewichtsabnahme der Samenblase unter beiden Bedingungen berücksichtigt. Die Annahme liegt aber nahe, daß der "paradoxe Effekt" vorgetäuscht wird. Wenn die wesentliche Wirkung des Testosterons an der Samenblase in einer Stimulation der Sekretbildung besteht, dann kann

man annehmen, daß durch eine Kastration oder CyAc-Behandlung der Sekretgehalt der sekretbildenden Zellen primär vermindert wird. Durch die damit verbundene Abnahme des Proteingehaltes könnte eine Zunahme des ^{14}C-Leucineinbaues pro mg Gewebeprotein vorgetäuscht werden.

Aufgrund der vorliegenden Untersuchungen kann aber nicht entschieden werden, ob das nach Kastration verbliebene Samenblasengewebe tatsächlich einen höheren ^{14}C-Leucineinbau pro mg Gewebeprotein besitzt, oder ob dieser "paradoxe Effekt" durch den unterschiedlichen zellulären Sekretgehalt vorgetäuscht wird.

Bei kastrierten männlichen Ratten führte eine dreitägige Behandlung mit TP zu einer Zunahme des Gewichtes und des ^{14}C-Leucineinbaues der Prostata etwa um den Faktor 2 (Abb. 2).

Durch diese dreitägige TP-Behandlung wurde das Prostatagewicht der nicht kastrierten Ratte noch nicht erreicht, der ^{14}C-Leucineinbau aber war gegenüber den nicht kastrierten Kontrollen etwa um den Faktor 2 erhöht. Durch gleichzeitige Behandlung mit CyAc und TP wurde die TP-Wirkung an der Prostata bezüglich der Gewichtszunahme und des ^{14}C-Leucineinbaues aufgehoben.

An der Samenblase führte die TP-Behandlung der kastrierten Tiere zu einer starken Zunahme des Samenblasengewichtes um den Faktor 4. Der ^{14}C-Leucineinbau pro mg Protein wurde durch die TP-Behandlung nur geringfügig erhöht. Entsprechend verhinderte eine kombinierte Behandlung mit TP und CyAc eine Gewichtszunahme der Samenblase,ohne den ^{14}C-Leucineinbau zu verändern (Abb. 2).

Wie bereits bei den Untersuchungen an nicht kastrierten Tieren unterscheiden sich auch Prostata und Samenblase der kastrierten männlichen Ratte deutlich in ihrem Verhalten gegenüber einer TP-bzw. TP und CyAc-Behandlung. Auch diese Unterschiede werden verständlich unter der vorstehend diskutierten Annahme, daß eine wesentliche Wirkung des TP an der Samenblase in einer Stimulation der Sekretbildung besteht.

Wie bereits aus den Untersuchungen von Neumann et al. (1) bekannt, ist Cy ein sehr viel schwächeres Antiandrogen als CyAc. Dies folgt auch aus den in Abb. 1 wiedergegebenen Ergebnissen, nach denen das Gewicht von Prostata und Samenblase normaler nicht kastrierter Ratten sowie der ^{14}C-Leucineinbau in vitro durch Cy praktisch nicht beeinflußt wird. Aus diesem Grunde wurde in den folgenden Untersuchungen nur CyAc verwendet.

Nach den Untersuchungen von Liao et al. (23), Wilson et al. (22) ist an Prostata und Samenblase der Ratte nicht das Testosteron die Wirkform, sondern das 5 - α - Dihydrotestosteron. Man darf heute annehmen, daß das Hormon im Zielorgan zunächst intracellulär an einen cytoplasmatischen Receptor (Transportprotein) gebunden wird und in Verbindung mit diesem Receptor zum Kern gelangt. Die Bindung des androgen wirksamen Hormons, zumindest an den cytoplasmatischen Receptor, besitzt eine hohe Spezifität.

Nach den bisher vorliegenden Untersuchungen konkurriert CyAc mit Testosteron um den bzw. die Receptoren und führt damit bei entsprechender Konzentration zu einer kompetitiven Hemmung der Testosteronwirkung am Zielorgan. Nun sind neben CyAc zahlreiche Verbindungen

mit antiandrogener Wirkung synthetisiert worden. Wenn man für all diese Verbindungen wie beim CyAc eine kompetitive Hemmung der Bindung des Testosterons an seine Receptoren annimmt, dann muß man schließen, daß die Bindung der Antiandrogene im Gegensatz zu der des Testosterons bzw. Dihydrotestosterons unspezifischer ist. In einigen orientierenden Versuchen wurde die Frage der Spezifität der antiandrogenen Wirkung des CyAc in dem hier benutzten System untersucht. Als Vergleichssubstanz zum CyAc diente Progesteron. Vom Progesteron leiten sich zahlreiche Antiandrogene ab.

Gemessen am Gewicht und am ^{14}C-Leucineinbau in vitro wirkt Progesteron an der Prostata wie CyAc als Antiandrogen, d.h., Progesteron hebt die Testosteronwirkung an der Prostata der kastrierten Ratte praktisch auf (Abb. 3). An der Samenblase hebt Progesteron die Gewichtszunahme durch die Testosteronbehandlung ebenfalls auf, es senkt aber im Gegensatz zum CyAc auch stark den ^{14}C-Leucineinbau pro mg Protein. Nach diesen Untersuchungen muß entsprechend den bereits 1962 von Dorfmann mitgeteilten endocrinologischen Befunden Progesteron als Antiandrogen bezeichnet werden (10).

In einem anderen Zusammenhang durchgeführte Untersuchungen hatten das überraschende Ergebnis gebracht, daß eine Östradiolbehandlung kastrierter Ratten an der Samenblase den ^{14}C-Leucineinbau in vitro noch stärker stimuliert als Testosteron. Auch das Gewicht der Samenblase der kastrierten Ratte wurde durch die Östradiolbehandlung erhöht. Im Gegensatz dazu war Östradiol,

gemessen am Organgewicht und am ^{14}C-Leucineinbau, an der Prostata unwirksam. Um einen Hinweis zu erhalten, ob Östradiol wie Testosteron an der Samenblase über eine Bindung an Transportproteine wirkt, wurde untersucht, ob die Östrogenwirkung an der Samenblase durch CyAc zu hemmen war. Bei der kombinierten Verabreichung von Östradiol und CyAc wurde der durch Östradiol erhöhte ^{14}C-Leucineinbau im Samenblasengewebe vermindert, das Gewicht der Samenblase aber blieb unverändert. Aufgrund dieser Ergebnisse konnte man schließen, daß Östradiol über eine Bindung an den Testosteronreceptor an der Samenblase eine androgene Wirkung entwickelt.

Nach neueren Untersuchungen wurde im Uterus die Existenz eines Testosteronreceptors und eines davon verschiedenen Receptors für Östradiol wahrscheinlich gemacht.

Wenn man dementsprechend für die Samenblase ebenfalls neben dem Testosteronreceptor einen Receptor für Östradiol annimmt, dann spricht die hier beschriebene Hemmung der Östradiolwirkung an der Samenblase durch CyAc dafür, daß sich CyAc nicht nur mit dem Testosteronreceptor, sondern auch mit dem hypothetischen Östradiolreceptor der Samenblase verbindet (Abb. 4).

Diese hier nur in Stichversuchen erhaltenen Ergebnisse werden ausführlich weiter bearbeitet.

Nach den bisher diskutierten Befunden wurde CyAc biochemisch in orientierenden Versuchen als Antiandrogen charakterisiert, d.h., es wurde gezeigt, daß CyAc

in typischen Zielorganen des Testosterons Prostata und Samenblase die stimulierende Wirkung des Testosterons auf die Proteinsynthese hemmt.

Neumann et al. haben bereits gezeigt, daß CyAc auch in nichttypischen Zielorganen des Testosterons als Antiandrogen wirkt (1). In der vorliegenden Arbeit wurde die durch Testosteron stark stimulierbare ß-Gluc. Akt. der Mäuseniere benutzt, um die antiandrogene Eigenschaft des Cyproterons in diesem Organ zu testen.

Die ß-Gluc. Akt. der Niere der hier benutzten erwachsenen normalen männlichen NMRI-Mäuse betrug im Mittel 5×10^3 Fishman-Einheiten. Das Nierengewicht betrug im Mittel 400 mg. 12 Tage nach Kastration betrug die ß-Gluc. Akt. nur noch etwa 1×10^3 FE. Das Gewicht nahm demgegenüber aber nur wenig ab und betrug ca. 300 mg (Abb. 5). Durch Behandlung der kastrierten Mäuse mit steigenden Mengen TP (Abb. 6) nahmen Nierengewicht und ß-Gluc. Akt. zu. Es ist bemerkenswert, daß das Nierengewicht bereits bei täglicher Dosierung von ca. 30 µg TP normalisiert wurde, durch weitere Steigerung der TP-Dosis aber nicht zu erhöhen war. Die ß-Gluc. Akt. verhielt sich in Abhängigkeit von der TP-Dosis völlig anders. Die Normalisierung der mittleren Enzymaktivität erfolgte mit ca. 50µg /die, eine weitere Erhöhung der TP-Dosis führte hier zu einer sehr starken Zunahme der ß-Gluc. Akt. über den Normalwert bei nicht kastrierten Mäusen. In Übereinstimmung mit diesen Befunden war bei nicht kastrierten Tieren das Nierengewicht durch eine hohe TP-Dosis nicht, die ß-Gluc. Akt. der Niere aber sehr stark zu erhöhen.

Nach Abb. 7 zeigt Met-Ac, gemessen am Anstieg der ß-Gluc. Akt. der Niere, etwa die gleiche Wirksamkeit wie TP. Wie beim TP wird durch hohe Dosen Met-Ac (100 µg, 1000 µg) das Nierengewicht der kastrierten Tiere normalisiert oder nur sehr geringfügig erhöht, die ß-Gluc. Akt. aber sehr stark über den Wert bei nicht kastrierten Tieren gesteigert.
Überraschenderweise war M-And, gemessen sowohl am Anstieg des Nierengewichtes als auch am Anstieg der ß-Gluc. Akt., in der Niere kastrierter Mäuse wesentlich weniger wirksam als TP und Met-Ac. Selbst mit M-And lag das Nierengewicht und besonders die ß-Gluc. Akt. noch deutlich unter den Werten unbehandelter Tiere (Abb. 8). Erst mit 1000 µg M-And wurde das Nierengewicht der kastrierten Maus normalisiert, die ß-Gluc. Akt. auf etwa 9×10^3 FE gesteigert. Die mit 1000 µg TP bzw. 1000 µg Met-Ac erzielte ß-Gluc. Akt. der Mäuseniere lag um etwa den Faktor 3 höher als bei der Gabe von 1000 µg M-And.
Die mit TP und Met-Ac erhaltenen praktisch gleichen Ergebnisse zeigen, daß zur Steigerung des Nierengewichtes und der ß-Gluc. Akt. die Δ^4-Doppelbindung im Ring A des Testosterons nicht essentiel ist. Es liegt der Schluß nahe, daß - wie an der Prostata der Ratte (Liao (23), Wilson (22)) - auch an der Niere der Maus das Dihydrotestosteron die Wirkform ist. Es wäre demnach möglich, daß Testosteron in vivo bei der Maus in Dihydrotestosteron überführt und als solches an der Niere wirksam wird. Entsprechende Untersuchungen zum Stoffwechsel des Testosterons an der Niere werden durchgeführt. Für die Bedeutung der Trans-Verknüpfung des A- und B-Ringes

wie sie im Dihydrotestosteron vorliegt, spricht auch der Befund, daß M-And wesentlich weniger wirksam ist als TP und Met-Ac, gemessen am Anstieg des Nierengewichtes und der ß-Gluc. Akt. Durch die Δ^1, Δ^4-Keto-Anordnung im M-And wird nämlich die vorwiegend in der Leber ablaufende Reduktion der Δ^4-Doppelbindung stark gehemmt und damit die Bildung einer nach 5 α - reduzierten Verbindung verlangsamt oder verhindert.

Eine Eigenwirkung des Testosteronantagonisten Cyproteron auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus war bis zu einer Dosis von 3 mg Cyproteron s.c./die nicht oder nur angedeutet, bei einer Injektion i.m. nicht nachweisbar. Im Gegensatz dazu zeigte CyAc in einer Dosierung von 3 mg i.m./die eine deutliche testosteronähnliche Wirkung auf Nierengewicht und ß-Gluc. Akt.. Das Nierengewicht und die ß-Gluc. Akt. wurden bei dieser Dosierung normalisiert. Nach den vorliegenden Stoffwechseluntersuchungen beim Menschen wird in vivo die Seitenkette im Cyproteron unter Bildung einer 17-Ketoverbindung abgespalten (24). Beim CyAc wird durch die Acetylierung der 17 α - OH Gruppe die Abspaltung der Seitenkette verhindert. Nach diesen Untersuchungen hätte man durch die Bildung einer 17-Ketoverbindung aus Cyproteron eine androgene Eigenwirkung für Cyproteron erwarten können. Die Annahme ist erlaubt, daß die "androgene" Eigenwirkung an die 17 α-Acetoxy-Gruppe im CyAc geknüpft ist. Da CyAc im Gegensatz zu Cyproteron ein sehr starkes Gestagen ist, könnte man schließen, daß die "androgene" Aktivität des CyAc in der Niere auf dessen Gestageneigenschaften zurückzuführen ist. Dieser Befund

steht im Gegensatz zu den Ergebnissen von Fishman (11), nach denen Progesteron die ß-Gluc. Akt. in der Niere der kastrierten Maus nicht steigert. Dieser Unterschied könnte aber dadurch bedingt sein, daß bei dem synthetischen Gestagen CyAc gegenüber dem Progesteron der Abbau in vivo stark gehemmt und damit die Konzentration am Wirkort bei gleichen Dosen höher sein könnte.

Aufgrund der starken "androgenen" Eigenwirkung des CyAc wurden die Untersuchungen zur Beeinflussung der Wirkung von TP, Met-Ac und M-And auf die ß-Gluc. Akt. der Niere nur mit Cyproteron durchgeführt. Es sollte nämlich mit einer gerade noch signifikant wirksamen Androgendosis und einer möglichst hohen Antiandrogendosis gearbeitet werden, um - bei Annahme eines kompetitiven Hemmungsmechanismus - Dosisrelation Antiandrogen zu Androgen möglichst groß zu halten.
Nach Abb. 11 war auch mit hohen Dosen Cyproteron und Cy Ac eine Verringerung des Nierengewichtes und der ß-Gluc. Akt. normaler nicht kastrierter männlicher Mäuse nicht nachweisbar. Die mit einer im toxischen Bereich liegenden Dosis von 10 mg Cy pro Tag und Tier beobachtete geringe Verminderung des Nierengewichtes kann nicht als antiandrogene Wirkung gewertet werden. Nach den in Abb. 12-14 wiedergegebenen Ergebnissen gelang es nicht, die Wirkung von TP auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus durch gleichzeitige Verabreichung von Cy zu hemmen. Die niedrigste täglich verabreichte TP-Dosis (30 µg) wurde dabei so gewählt, daß mit dieser Dosis gerade noch eine signifikante Steigerung der ß-Gluc. Akt. der Niere bei kastrierten Tieren zu erzielen war. Auch mit einer um den Faktor 100 höheren täglichen Cy-Dosis war die TP-Wirkung an der Niere nicht aufhebbar.

Im Gegensatz zu den Untersuchungen mit TP konnte nach den Abb. 15 und 16 die Wirkung von 20 µg bzw. 30 µg Met-Ac auf die ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus durch die gleichzeitige tägliche Verabreichung der hundertfachen Dosis Cy im Mittel deutlich gehemmt werden. Die Hemmwirkung des Cy auf die Met-Ac-Wirkung war aber nur für den in Abb. 16 dargestellten Versuch statistisch zu sichern. Die Schwierigkeit beim Nachweis einer antiandrogenen Wirkung des Cy in Kombination mit Met-Ac ist auf die "androgene" Eigenwirkung des Cy zurückzuführen sowie auf die Notwendigkeit, eine möglichst geringe Met-Ac-Dosis zu benutzen, um, wie bereits erwähnt, das Cy : Met-Ac-Verhältnis möglichst groß zu halten. In dem in Abb. 16 dargestellten Versuch wurde nicht nur die Met-Ac-Wirkung in Hinsicht auf die ß-Gluc. Akt., sondern auch das Nierengewicht durch die gleichzeitige Cy-Verabreichung signifikant gehemmt.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß in mehreren Versuchsreihen die Wirkung von Met-Ac auf das Gewicht und die ß-Gluc. Akt. kastrierter Mäuse durch gleichzeitige Verabreichung von Cy im Mittel gehemmt wurde, daß diese Hemmung aber nur bei täglicher Verabreichung von 30 µg Met-Ac s.c. mit 3 mg Cy i.m. statistisch zu sichern war.
Die Beeinflussung der Methandrostenolonwirkung auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere kastrierter Mäuse wurde nicht ausführlich bearbeitet, da nach Abb. 8 und 9 etwa 100 µg M-And täglich verabreicht werden mußten,

um eine signifikante Steigerung der ß-Gluc. Akt. zu erreichen. Um bei dieser hohen M-And-Dosis noch einen geeigneten Cy:M-And Quotienten zu erhalten, wären Cy-Dosen im toxischen Bereich erforderlich gewesen. Nach Abb. 17 führte die gleichzeitige Verabreichung von 100 µg M-And s.c. und 3 mg Cy i.m. nicht zu einer signifikanten Hemmung der M-And-Wirkung auf Gewicht und ß-Gluc. Akt. der Niere der kastrierten Maus.

4 Literatur

1. NEUMANN, F. and R. von BERSWORDT-WALLRABE:

Effects of a new anti-androgen, 1, 2 α -methylene-6-chlor-Δ^4-17α - hydroxyprogesterone-17-acetate (SH 714), on the testicular structure of adult testosteronepropionate (TP)-treated hypophysectomized rats.

5th Acta Endocrinologica Congress (Abstract No. 10), Hamburg 1965

Acta endocr. (Kbh.) Suppl. 100: 42 (1965)

NEUMANN, F. and R. von BERSWORDT-WALLRABE:

Effects of the androgen antagonist cyproterone acetata on the testicular structure, spermatogenesis and accessory sexual glands of testosterone-treated adult hypophysectomized rats.

J. Endocr. 35: 363-371 (1966)

NEUMANN, F.:

Antagonismus von Testosteron und 1, 2 α-Methylen-6-chlor-pregna-4, 6dien-17 α01-3, 20-dion (Cyproteron) an den die Gonadotropinsekretion regulierenden Zentren bei männlichen Ratten.

Acta endocr. (Kbh.) 53: 382-390 (1966)

NEUMANN, F., W. ELGER und R. von BERSWORDT-WALLRABE:

Intersexualität männlicher Foeten und Hemmung androgenabhängiger Funktionen bei erwachsenen Tieren durch Testosteronblocker.

Dtsch. med. Wschr. 92: 360-365 (1967)

2. VOIGT, K.D., M. APOSTOLAKIS and H. KLOSTERHALFEN:

The influence of cyproterone treatment on the excretion of steroids in male patients.

In: Testosterone. Proceedings of the Workshop Conf. 1967, Tamm, J., ed. Thieme, Stuttgart, 152, 1968

TAMM, J. and W. BEISCHER:

The urinary excretion of testosterone and epitestosterone in females following intravenous infusions of testosterone before and during treatment with an antiandrogen (cyproterone).

Acta Endocr. 59: 454-458 (1968)

3. NEUMANN, F., W. ELGER and R. von BERSWORDT-WALLRABE:

Effects of an antiandrogen on the hypothalamic pituitary system in male and female rats.

IInd Int. Congress on Hormonal Steroids, Mailand 1966.

Excerpta Med. Int. Congress Series 111 (Abstract No. 276)

NEUMANN, F., H. STEINBECK, W. ELGER und R. von BERSWORDT-WALLRABE:

Hoden: Morphologie und Funktion unter der Einwirkung von PMS und HCG bei gleichzeitiger Antiandrogenbehandlung.

Acta endocr. (Kbh) 57: 639-648 (1968)

4. HUGGINS, C.:

Physiol. Rev. 25: 281 (1945)

5. KOCHAKIAN, C.D. and D.G. HARRISON:

Regulation of nucleic synthesis by androgens.

Endocrinology 72: 354 (1963)

KASSENAER, A., A. KOUWENHOVEN and A. QUERIDO:

The metabolic action of testosterone and related compounds. V. The effect of testosterone on the nucleic acid composition of seminal vesicles and kidneys of mice.

Acta endocr. 39: 223-228 (1962)

6. FISHMAN, W.H. and J.B. LIPKIND:

Comparative ability of some steroids and their esters to enhance the renal-ß-glucuronidase activity of mice.

J. Biol. Chem. 232: 729-736 (1958)

7. LOWRY, O.H.:

J. Biol. Chem. 193: 265 (1951)

8. KOCHAKIAN, C.D. and J. HILL:

Effect of castration and androgens on the incorporation of (6-^{14}C) orotic acid into the prostate and seminal vesicles of the mouse.

Steroids 15, 6 (1970) 777-788

9. WILLIAMS-ASHMAN, H.G., S. LIAO, R.L. HANCOCK, L. JURKOWITZ and D.A. SILVERMANN:

Testicular hormones and the synthesis of ribonucleic acids and proteins in the prostate gland.

Recent Progress in Hormone Research 20, 297 (1964)

10. DORMAN, R.J.:

Methods in Hormon Research II: 315 (1962)

Acta endocr. (Kbh) 41: 268 (1962)

11. FISHMAN, W.H., M. ARTENSTEIN and S. GREEN:

The renal ß-glucuronidase response to androgens.

Endocr. 57: 646-657 (1955)

12. TALALAY, P., W.H. FISHMAN and CH. HUGGINS:

Chromogenic substrates: II. Phenolphthalein glucuronic acid as substrate for the essay of glucuronidase activity.

J. Biol. Chem. 166: 757-772 (1946)

13. RIOTTON, G. and W.H. FISHMAN:

ß-glucuronidase studies in inbred mice: Androgenic hormones and kidney and urinary ß-glucuronidase activity.

Endocrinol. 52: 692-697 (1953)

14. HAHN, J.D. und F. NEUMANN:

Untersuchungen zum Geschlechtsdimorphismus von sechs Enzymen der Mäuseniere mit Hilfe von Cyproteronacetat.

Histochemie 17: 39-48 (1969)

15. FISHMAN, W.H. and M.H. FARMELANT:

Effects of androgens and estrogens on ß-glucuronidase in inbred mice.

Endocrinol. 52: 536-545 (1953)

16. PETTENGILL, O.S. and W.H. FISHMAN:

In vivo glycine-1-^{14}C incorporation studies of mouse kidney ß-glucuronidase in response to androgenic stimulation.

J. Clin. Endocrinol. + Metab.,(1960)

17. FRIEDEN, E.H., A.A. HARPER, FULTON CHIN and W.H. FISHMAN:

Dissiciation of androgen-induced enzyme synthesis and amino acid incorporation in mouse kidney by actinomycin D.

Steroids 4, 6: 777-786 (1964)

18. NEUMANN, F., R. von BERSWORDT-WALLRABE, W. ELGER und H. STEINBECK :

In: Wirkungsmechanismus der Hormone.

18. Symp. der Gesell. für Physiolog. Chemie, Karlson, P. Ed., Mosbach: 218-248, 1967

19. DI SOMMA, A.A.:

J. Biol. Chem. 133: 277 (1940)

20. NEUMANN, F., W. ELGER, H. STEINBECK und von BERSWORDT-WALLRABE:

Antiandrogene.

13. Symp. Dtsch. Ges. für Endokrinologie, Würzburg 1967

In: Klein, E. (ed.): Das Testosteron-Die Struma,

Springer-Verlag, Berlin, 1968, S. 78-101

21. FISHMAN, W.H.:

ß-glucuronidase. In: Chemistry of Drug Metabolism.

Charles C. Thomas Publisher, Springfield, USA, 1961, p. 124-149

22. WILSON, J.D. and R.E. GLOYNA:

The intranuclear metabolism of testosterone in the accessory organs of reproduction.

Recent Progress in Hormone Research 26: 309-336 (1970)

23. LIAO, SH. and S. FANG:

Receptor-Proteins for androgens and the mode of action of androgens on gene transcription in ventral prostate.

Vitamins and Hormones Adv. in Res. and Appl. 27:17-90 (1969)

24. GERHARDS, E., H. RÖPKE and P.E. SCHULZE:

Biodynamics of 1,2 α-methylene-6-chlor-pregna-4, 6-dien-17α -01-3, 20-dione (cyproterone) in man following oral and intravenous administration.

Acta Endocr. 64: 228-252 (1970)

Herrn Priv.Doz. Dr. Dr. E. Gerhards,
dem Leiter der Abteilung Biologische Chemie
der Schering AG Berlin und Bergkamen,
möchte ich für die Überlassung des Themas
und für seine zahlreichen Ratschläge
herzlich danken.

Gleichfalls gebührt mein Dank Frau Hart,
die mir besonders bei den labortechnischen
Arbeiten behilflich war.

5 Lebenslauf

Am 1. November 1940 wurde ich als Sohn des Dipl.-Ing. Dr. Walter Fischer und seiner Ehefrau Ilse, geb. Kautz, in Fürstenwalde/Spree geboren.

1947 wurde ich in meiner Geburtsstadt eingeschult, 1952 siedelten wir nach West-Berlin um. Dort besuchte ich ein Jahr die Grundschule, wurde dann 1953 Schüler des humanistischen Gymnasiums zu Berlin-Steglitz, wechselte 1956 zur Tannenberg-Schule in Berlin-Lichterfelde, einem mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig, über und bestand dort 1962 das Abitur.

Im gleichen Jahr begann ich mit dem Studium der Human-Medizin an der Freien Universität Berlin. Nach bestandenem Vorphysikum 1963 und Physikum 1964 legte ich im März 1968 das Staatsexamen ab.

Nach Ableistung einer zwanzigmonatigen Medizinal-assistentenzeit auf verschiedenen Fachabteilungen erhielt ich im Januar 1970 die Approbation.
Zur Zeit befinde ich mich in der Facharztausbildung für das Fach Innere Medizin auf der II. Inneren Abteilung des Städtischen Auguste-Viktoria-Krankenhauses.

Druck: Dissertationsdruckstelle, 1 Berlin 33, Garystr. 45